

学校编码: 10384  
学号: 20051302183

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_  
UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

# 中华乌塘鳢性分化及早期性腺发育研究

**Studies on Sex Differentiation and Early Gonadal  
Development of Chinese Black Sleeper *Bostrichthys sinensis***

何振邦

指导教师姓名: 洪 万 树 教 授  
专 业 名 称: 海 洋 生 物 学  
论文提交日期: 2008 年 08 月  
论文答辩时间: 2008 年 08 月  
学位授予日期:

答辩委员会主席: 张其永教授  
评 阅 人: \_\_\_\_\_

2008 年 8 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，  
于        年        月        日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年        月        日

## 目录

中文摘要 .....	VII
英文摘要 .....	VIII
前言 .....	1
第一章 文献综述 .....	3
1 鱼类的性别表达 .....	3
2 鱼类的性别决定机制 .....	4
2.1 鱼类性别的染色体决定机制 .....	4
2.2 鱼类性别的多基因决定机制 .....	5
2.3 鱼类性别的基因-环境共同决定机制 .....	6
2.4 温度的影响 .....	6
3 鱼类的性分化 .....	9
3.1 鱼类性分化的类型 .....	9
3.2 鱼类性分化的主要标志 .....	9
4 硬骨鱼类性腺及贮精囊的结构及组织学期 .....	10
4.1 卵巢的组织学期 .....	10
4.2 精巢的结构和组织学期 .....	11
4.3 贮精囊的结构和功能 .....	12
5 中华乌塘鳢的研究进展 .....	12
5.1 生殖生物学研究 .....	12
5.2 生殖生态学研究 .....	12
5.3 胚胎及仔稚鱼发育研究 .....	13
5.4 其他研究 .....	14
6 研究的目的是和意义 .....	16

<b>第二章 中华乌塘鳢性分化规律研究</b>	17
<b>1 材料和方法</b>	17
1.1 材料和试剂	17
1.2 主要仪器	18
1.3 试剂的配制	18
1.4 实验方法	19
<b>2 实验结果</b>	19
2.1 中华乌塘鳢原始性腺的发育	19
2.2 中华乌塘鳢性腺的分化	20
2.3 卵巢的组织学观察	21
2.4 精巢和贮精囊的结构和组织学观察	21
<b>3 讨论</b>	22
3.1 原始生殖细胞的迁移	22
3.2 性腺分化的方式	23
3.3 性腺分化开始的特征	23
3.4 卵巢腔的形成及发育	23
3.5 精巢的形成、发育及贮精囊的结构	24
3.6 性腺分化开始的时间	25
3.7 性腺细胞学上的分化	25
<b>4 本章小结</b>	25
<b>第三章 温度对中华乌塘鳢性别表达的影响</b>	27
<b>1 材料和方法</b>	27
1.1 材料和试剂	27
1.2 主要仪器	27

1.3 试剂的配制 .....	28
1.4 实验方法 .....	28
<b>2 实验结果</b> .....	28
2.1 温度对孵化的影响 .....	28
2.2 温度对仔稚鱼生长的影响 .....	28
2.3 温度对性腺分化过程的影响 .....	30
2.4 温度对群体性比例的影响 .....	30
<b>3 讨论</b> .....	30
3.1 温度对孵化的影响 .....	30
3.2 温度对鱼类生长及性分化开始时间的影响 .....	32
3.3 温度对性比例的影响 .....	32
<b>4 本章小结</b> .....	34
<b>第四章 结论</b> .....	35
<b>图版</b> .....	37
<b>参考文献</b> .....	43
<b>致谢</b> .....	55

## Contents

<b>Chinese abstract</b> .....	VII
<b>English abstract</b> .....	VIII
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapter One Literature review</b> .....	3
<b>1 Sex expression of fish</b> .....	3
<b>2 Sex differentiation of fish</b> .....	4
2.1 Chromosomal sex determination system .....	4
2.2 Polygene determination system .....	5
2.3 Gene-environment determination system .....	6
2.4 Influence of temperature .....	6
<b>3 Sex determination of fish</b> .....	9
3.1 Type of sex determination .....	9
3.2 Sign of sex determination .....	9
<b>4 Structure of gonad and seminal vesicle</b> .....	10
4.1 Histological characteristic of oocyte cell .....	10
4.2 Structural and histological characteristic of spermic cell .....	11
4.3 Structure and function of seminal vesicle .....	12
<b>5 Progresses in the studies of <i>Bostrichthys sinensis</i></b> .....	12
5.1 Research of reproductive biology .....	12
5.2 Research of reproductive ecology .....	12
5.3 Research of embryonic and larval development .....	13
5.4 Other research .....	14
<b>6 Purpose and significance of the research</b> .....	16
<b>Chapter Two Sex differentiation of <i>Bostrichthys sinensis</i></b> .....	17

<b>1 Materials and methods</b>	17
1.1 Samples and reagents	17
1.2 Equipment	18
1.3 Preparation of Reagents	18
1.4 Methods of the research	19
<b>2 Results</b>	19
2.1 Development of primordial gonads	19
2.2 Differentiation of gonad	20
2.3 Histological characteristic of ovary	21
2.4 Structural and histological characteristics of spermic cell and seminal vesicle	21
<b>3 Discussion</b>	22
3.1 Migration of primordial germ cells	22
3.2 Patterns of sex differentiation	23
3.3 Characteristic of sex differentiation	23
3.4 Formation of ovarian cavity	23
3.5 Formation of testis and structural of seminal vesicle	24
3.6 Time of sex differentiation	25
3.7 Histological characteristic of gonadal cells	25
<b>4 Summary of the chapetr two</b>	25
<b>Chapter Three Temperture influence on sex expression of</b>	
<b><i>Bostrichthys sinensis</i></b>	27
<b>1 Materials and methods</b>	27
1.1 Samples and reagents	27
1.2 Equipment	27
1.3 Preparation of Reagents	28
1.4 Methods of the research	28
<b>2 Results</b>	28



2.1 Influence of temperature on hatching .....	28
2.2 Influence of temperature on growth of larvae .....	28
2.3 Influence of temperature on gonadal differentiation .....	29
2.4 Influence of temperature on sex ratio.....	30
<b>3 Discussion</b> .....	30
3.1 Temperature influence on incubation period and hatching rate .....	30
3.2 Temperature influence on growth and sex differentiation time .....	32
3.3 Temperature influence on sex ratio .....	32
<b>4 Summary of the chapter three</b> .....	34
<b>Chapter Four Conclusions</b> .....	35
<b>Plate</b> .....	37
<b>References</b> .....	43
<b>Acknowledgements</b> .....	55

## 摘要

本文以中华乌塘鳢 (*Bostrichthys sinensis*) 为研究对象, 在 3 个温度 ( $24\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、 $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、 $31\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ) 条件下进行中华乌塘鳢受精卵培育, 观察在所设定的温度条件下仔、稚鱼及幼鱼的发育状况, 运用组织学方法观察了中华乌塘鳢原始生殖细胞 (PGCs) 的形成、迁移, 性分化规律以及性比变化, 探讨温度对中华乌塘鳢性分化和早期性腺发育的影响, 为中华乌塘鳢的温度诱导性分化提供理论依据。

实验结果显示, 在  $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  的培养温度下, 1 日龄仔鱼原始生殖细胞 (PGC) 位于消化道中肠靠近前肾管的腹膜上皮; 5 日龄仔鱼 PGCs 增殖且有向前肾管两侧迁移的趋势; 20 日龄生殖嵴及原始性腺形成; 25 日龄生殖嵴内产生单个 PGC; 50 日龄卵巢腔的形成, 从解剖学水平标志着卵巢开始分化; 55 日龄卵巢腔中初级卵母细胞的出现, 从细胞学水平标志着卵巢分化的开始; 95 日龄精小叶的形成及输出管的出现, 从组织学水平标志着精巢开始分化; 120 日龄初级精母细胞的出现, 从细胞学水平标志着精巢分化的开始。4 月龄时贮精囊出现, 囊内未见精子的存在。在  $24\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  的培养温度下, 60 日龄卵巢腔形成及卵原细胞出现, 80 日龄初级卵母细胞出现; 在  $31\pm 0.5^{\circ}\text{C}$  的培养温度下, 50 日龄卵巢腔形成且初级卵母细胞出现。性腺分化程度与体长密切相关。

对分化过程中的原始生殖细胞、卵细胞、精细胞及贮精囊的组织学特征进行观察。精巢的内部结构是小叶型, 其精原细胞及精母细胞存在于精小囊中, 同一个精小囊内的精细胞发育基本同步, 精小叶的排列没有一定的规律。贮精囊被结缔组织隔膜分隔成许多小室腔, 小室腔内有分泌物。

中华乌塘鳢的卵巢腔形成方式是在性腺外侧出现组织突, 组织突向上向下延伸, 在侧面融合而形成卵巢腔。

用较高温度 ( $31\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ) 和较低温度 ( $24\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ) 对受精卵及仔稚鱼连续温度处理, 都能轻微提高雌性性比, 但与对照组性比差异不显著。

关键词: 中华乌塘鳢; 性分化; 性腺发育; 温度

## Abstract

In this paper, the fertilized eggs of Chinese Black Sleeper (*Bostrichthys sinensis*) were incubated and larvae were cultivated at three different water temperatures ( $24\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、 $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、 $31\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ) . The growth of the larvae was investigated. The migration of primordial germ cells (PGCs), the gonad sex differentiation and sex ratio were investigated using histological methods. The effects of temperature on sex differentiation and growth were studied, in order to provide the scientific data for the influence of temperature on sex differentiation. The results were as follows:

Under the cultivated temperature ( $28\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ), on day 1, the PGC was at the peritoneal epithelium. On day 5, PGCs migrated towards the pronephric ducts. The genital ridge and primordial gonads were formed on day 20. On day 25, PGC was found in the genital ridge. The anatomical sign of ovarian differentiation was the formation of ovarian cavity, which appeared 50 days after hatching. The mitosis of oogonia happened on day 55. The anatomical sign of spermatic differentiation was the formation of seminiferous lobular and vas efferens, which appeared 95 days after hatching. The mitosis of spermatogonia appeared 2 months after hatching. The seminal vesicle was found 4 months after hatching. Under the lower temperature ( $24\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ), the the formation of ovarian cavity happened on day 60. The mitosis of oogonia happened on day 80. Under the higher temperature ( $31\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ), the formation of ovarian cavity and the mitosis of oogonia happened on day 50. The phase of early gonad sex differentiation was related to the body length.

The histological characteristics of PGCs, oocyte cell, spermic cell and seminal vesicle were observed. The spermatogonium and spermatocyte were found in the seminal cysts. The structure of the testes was lobular type, but the arrangement of the seminiferous lobulus is irregular. The seminal vesicle was divided into many locule lumina by the connective tissue partition. The locule lumina were full of secretion.

The tissue outgrowths on gonad elongated and then fused to form the ovarian cavity.

Lower temperature and higher temperature could increase the female sex ratio

slightly compared with cultivated temperature ( $28 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ).

Key words: *Bostrichthys sinensis*; sex differentiation; gonad development; temperature

厦门大学博硕士论文摘要库

## 前言

鱼类在脊椎动物门中是最为低等的类群，同时也是世界上分布最广、种类最多、最为丰富的脊椎动物类群。全世界共有鱼类 24618 种，隶属于 57 个目 482 科 4258 属，占脊椎动物种类总数的一半以上，其中海水鱼类约为 13000 种<sup>[1]</sup>。鱼类在脊椎动物进化中处于承前启后的地位，有着长久的进化历史和繁多的演化分支。鱼类在进化过程中表现出各种趋同性、趋异性和保守性，变化纷繁，物种进化异常活跃。鱼类不仅具有重大的经济价值，而且还具有多种多样的生物学特性，例如鱼类在性别决定中具有多种表现形式，大部分鱼类属于雌雄异体，同时也存在雌雄同体、天然雌核发育、自然性逆转等情况。在研究鱼类性别决定的过程中发现存在着脊椎动物性别决定的可塑性，而人类性别决定具有稳定性。这种现象使得我们在研究鱼类性别决定的时候，不仅要关注 XY 染色体的遗传决定机制，也要探索在性别决定过程中的多样性的影响因素。通过这种对鱼类性别决定的研究，可以探索性别决定在物种进化过程中的调整机制；鱼类在生物学及生态学上的分化也使得研究方式多样；鱼类同时也是易于进行人工养殖及实验操作的优良研究对象，可以进行各种性别决定理论的调查和测试；鱼类作为人类重要的蛋白质来源，以及水产养殖活动的不断兴起，对养殖品种的繁殖生物学研究变得更加迫切<sup>[2]</sup>。

中华乌塘鳢(*Bostrichthys sinensis* Lacépède)隶属于鲈形目(Perciformes)，鰕虎鱼亚目(Gobioidae)，塘鳢科(Eleotridae)，乌塘鳢属(*Bostrichthys*)<sup>[3-4]</sup>。分布于印度洋北部沿岸，东至太平洋美拉尼西亚和波利尼西亚，北至日本，南至印尼。在我国产于南海、北部湾、台湾海峡和东海。中华乌塘鳢为凶猛性肉食性鱼类，幼鱼和成鱼摄食虾类、蟹类等底栖无脊椎动物和其它小型鱼类。中华乌塘鳢肉质细腻、味道鲜美、营养丰富、具有药用价值，且具有生命力强、生长快、易饲养等特点，是一种优良的养殖种类<sup>[5-8]</sup>。

目前对鱼类性别决定主要研究内容为生殖腺的性别决定(影响性别决定的最主要调节机制)及与之相关的性腺发育和功能的生理学研究、性分化(性别决定之后的性腺发育过程)、以及少量的关于行为学、形态学上的第二性征的研究。首先，鱼类进化程度比较低，其性别决定机制比较复杂，可塑性较好，为鱼类性别的人工控制提供了广阔的发展空间；其次，很多经济鱼类雌雄个体之间经济性

状存在明显差异,通过苗种生产,选择具有最佳生长性能的性别进行养殖,对于提高养殖对象的生长和经济价值具有重要意义;再次,可以指导成鱼养殖管理,提高养殖亲鱼的各种性状,解决人工繁育过程中亲鱼来源短缺或不稳定的问题。鱼类性别决定及性分化,对于研究鱼类的遗传、变异、分类、系统演化、性别控制、杂交育种等都具有重要意义。

目前国内外有关中华乌塘鳢的研究主要集中在人工繁殖和种苗培育、早期发育、幼体实验生态、成鱼养殖技术、精子的低温冷冻保存、雌雄同体以及性信息素诱导产卵等方面<sup>[9-43]</sup>。国内外有关中华乌塘鳢早期性分化及性别决定的研究仍未见报道,仅见到关于精巢及贮精囊形态观察,以及精子的生物学特征<sup>[28-30]</sup>的报道。通过组织学观察中华乌塘鳢早期性分化,可以获得该鱼性腺细胞组织学分化的资料;通过对性别决定机制的探索,可以为诱导产生特定性别群体提供参考资料。本文以经济鱼类中华乌塘鳢为实验对象,采用不同温度对其胚胎及仔稚鱼进行培育,观察在所设定的温度条件下,仔鱼、稚鱼及幼鱼的发育情况和性分化规律及性比变化,探讨温度对其性分化的影响,以期用于指导相关研究。

## 第一章 文献综述

### 1 鱼类的性别表达

鱼类的性别表达主要包括性别决定和性分化两个过程，性别决定是指确定性分化方向的方式，而性分化则是指具有双向分化潜力的未分化性腺经过一系列程序性发生的事件，发育成精巢或卵巢，并出现第二性征的过程。因此性分化最后产生在形态、功能和行为上有明显区别的雄性和雌性两种鱼。一般而言，遗传性雄鱼会分化成功能性雄鱼，而遗传性雌鱼分化成功能性雌鱼。但是 Adkins-Regan 指出，一些低等脊椎动物的性分化极易受到环境因素的影响，而使性别表型与遗传型不一致<sup>[44]</sup>。这种性别不稳定性和性别决定与分化机制的多样性在鱼类中显得尤其突出。因此，鱼类在整个脊椎动物中，其性别类型和表现形式格外丰富多彩。大部分鱼类属于雌雄异体鱼，同时也存在雌雄同体、天然雌核发育、自然性逆转等情况。但鱼类的性别归纳起来不外乎于生理性别和遗传性别两大类，Yamazaki<sup>[45]</sup>提出并总结了鱼类的性别表达系统（图 1-1）。

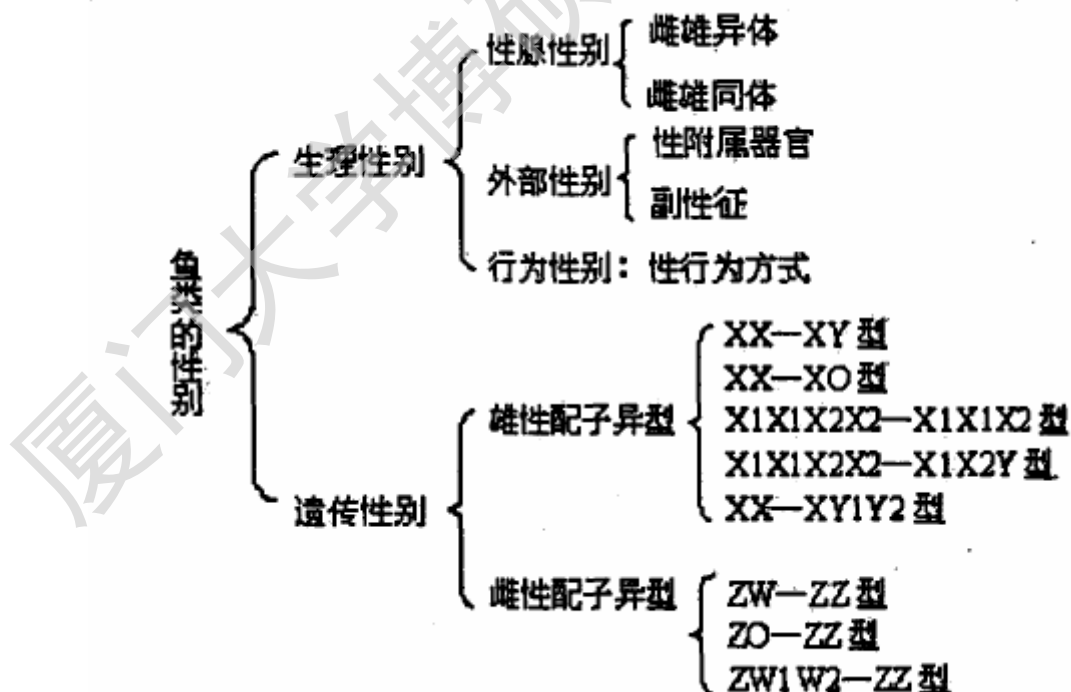


图 1-1 鱼类的性别表达系统分类

Fig.1-1 Mechanisms for the sex expression of fish

资料来源：F Yamazaki. Sex control and manipulation in fish [J]. Aquaculture, 1983.

## 2 鱼类的性别决定机制

在哺乳动物中，性别决定基因高度集中，形成性染色体。Y 染色体性别决定区是决定精巢发育的核心，直接诱导精巢的发生与形成，如无该区段，具有双向分化潜力的未分化性腺则发育成卵巢<sup>[46]</sup>。性别一旦形成，一般不易逆转。而在鱼类中，由于进化上的原始性，情形并不如此简单。除性染色体外，常染色体上的某些基因和一些外部环境因素也参加性别决定。鱼类主要有 3 种性别决定模式：染色体决定、多基因决定和基因型-环境共同决定。

### 2.1 类性别的染色体决定机制

染色体决定：在这种性别决定模式中，一对染色体（通常称为异染色体或性染色体）上集中了绝大多数与性别有关的基因。鱼类的异染色体很少能从形态上加以区分，然而，通过交配试验和细胞遗传学分析，Tave<sup>[47]</sup>总结提出了鱼类性别决定的 8 种染色体系统（表 1-1）。

表 1-1 鱼类的性染色体系统

Tab.1-1 Chromosomal sex determination systems in fish

性染色体系统	代表鱼
XX/XY	<i>Oreochromis niloticus</i> , <i>Cyprinus carpio</i>
WZ/ZZ	<i>Oreochromis aureus</i> , <i>Oreochromis hornorum</i>
WXY	<i>Xiphorus maculatus</i>
XX/XO	<i>Sternoptyx diaphana</i>
ZO/ZZ	<i>Colisa lalia</i>
$X_1X_2X_3X_4/X_1X_2Y$	<i>Awaous aeneofuscus</i>
$W_1W_2Z/ZZ$	<i>Apareiodon affinis</i>
$XY_1Y_2/XX$	<i>Hoplias</i> sp.

资料来源：Tave D. Genetics for Fish Hatchery Managers (2<sup>nd</sup> ed) [M]. New York: AVI Publishers, 1993.

XX/XY 系统在鱼类中最普遍。在这个系统中，雌性的性染色体是同配的（XX），而雄性的性染色体是异配的（XY）。Y 染色体是决定性别的染色体，即



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库